Aus dem histologisch-embryologischen Institut in München.

Zur Entwicklung der Bindegewebsknochen.

Mit zwei Tafeln.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

hohen medizinischen Fakultät

der

K. B. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Adele Hartmann
aus München.

München 1912.
K. Hofbuchdruckerei Kastner & Callwey.

Aus dem histologisch-embryologischen Institut in München.

Zur Entwicklung der Bindegewebsknochen.

Mit zwei Tafeln.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

hohen medizinischen Fakultät

der

K. B. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Adele Hartmann

aus München.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

München 1912.

K. Hofbuchdruckerei Kastner & Callwey.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München.

Referent: Herr Professor Dr. S. MOLLIER.

Aus dem histologisch-embryologischen Institut der Universität München.

Zur Entwicklung des Bindegewebsknochens.

Von

Adele Hartmann.

Hierzu Tafel XII und XIII und 4 Textfiguren.

v. Korff hat, veranlasst durch seine Untersuchungen über die erste Anlage der Knochengrundsubstanz (1906), die alte „Osteoblasten"lehre von der Histogenese des Knochens verlassen, die fast durch 40 Jahre in der Fassung Waldeyers gegolten hatte. Ihr trat nun v. Korff mit der Behauptung entgegen, dass die erste Anlage des Knochenbälkchens aus miteinander verflochtenen Fibrillenbündeln bestehe, die gar nicht von den Osteoblasten gebildet werden, sondern von indifferenten Zellen des umliegenden Gewebes. Über die Herkunft der Substanz, welche die Fibrillen verbindet, spricht er sich nicht näher aus, da sie seiner Meinung nach unwichtig ist. Während früher also die Osteoblasten tatsächlich als die Bildner des Knochens galten, sollten sie nach der neuen Anschauung damit nichts mehr zu tun haben. Diese Streitfrage ist in den letzten Jahren nicht entschieden worden; sie hat sich vielmehr noch verschärft. Die einen legen für die Entstehung des Knochens das Hauptgewicht auf die Grundsubstanz und beachten die Fibrillen wenig oder gar nicht; zu diesen Autoren gehören vor allem v. Ebner, Disse und Novikoff; ihnen gegenüber stehen v. Korff und in gewisser Hinsicht auch Studnička, die ganz besonders die fibrilläre Anlage betonen und den Osteoblasten selbst nur eine ganz geringe Tätigkeit bei der Knochenbildung einräumen.

Ehe ich nun auf die Resultate meiner eigenen Untersuchungen näher eingehe, möchte ich auch an dieser Stelle Herrn Professor Mollier, der mir die Anregung zu der Arbeit gab und mich bei ihrer Ausführung unterstützte, meinen ergebensten Dank aussprechen.

Ebenso danke ich Herrn Prosektor Dr. Böhm verbindlich für die mir geleistete Hülfe.

Methodik.

Zur Untersuchung wurden Embryonen von Schafen und Kaninchen verwendet, auch wurden einige Schnitte von Katzenembryonen einer genaueren Prüfung unterzogen. Dabei zeigte sich, dass abgesehen von Verschiedenheiten in der äusseren Form des Unterkiefers, die höchstens in einem rascheren oder langsameren Wachstum, namentlich Dickenwachstum, auffällig wurden, bei den verschiedenen Tieren in der Genese des Knochens kein wesentlicher Unterschied festzustellen war. Es darf also wohl angenommen werden, dass auch für andere Säugetiere die erste Anlage des Knochens in übereinstimmender Weise erfolgen wird.

Am geeignetsten zur Untersuchung erwiesen sich Embryonen von ca. 2 cm Scheitel-Steisslänge; es sind hier die Meckelschen Knorpel noch in der ganzen Ausdehnung erhalten und es hat sich nach aussen von diesen beiderseits eine dünne Knochenspange angelegt, die von der Stelle ihrer ersten Anlage weiter nach vorn reicht als nach rückwärts und auch vorne etwas kräftiger entwickelt ist.

Entkalkung des Knochens ist in diesen Stadien noch nicht nötig; namentlich wenn diese mit Flemmingscher Lösung fixiert worden waren.

Die Schnittrichtung wurde anfangs frontal geführt; man konnte dabei erkennen, wie sich der Knochen halbkreisförmig um den Meckelschen Knorpel herum anlegt, nicht in kompakter Masse, sondern in Lamellen von verschiedener Dicke, die sich netzförmig untereinander verbinden. In geringer Entfernung vom Knochen ist das Mesenchym bereits verdichtet, reichliche Fasern gebildet und die Zellen in die Länge ausgezogen als Anlage des späteren Periosts. Über die Entstehung der Lamellen liess sich dabei aber nichts oder so gut wie nichts erkennen.

Später wurde die Schnittrichtung mehr schräg und horizontal gelegt und da zeigte sich, dass an dem proximalen Ende, also in der Richtung gegen das spätere Gelenk zu, deutlich alle Stadien der Umbildung zu erkennen waren. Es wächst also der Knochen offenbar langsamer nach rückwärts, als in die Dicke. Nach rückwärts ist auch noch keine Grenze gezogen für das Wachstum durch die Verdichtung des Mesenchyms zum Periost. Die Dicke der Schnitte betrug durchschnittlich 5—7 μ.

Fixiert wurden die Objekte zum Teil in Flemmingscher Lösung je nach der Grösse verschieden lang: zwei Tage bis zu drei Wochen. Zum Teil in Zenker, Helly-Müller, Sublimat und Formol. Da letzteres gern Schrumpfungen bewirkt, die gerade hier leicht zu Täuschung Veranlassung geben, so sind die Bilder mit Vorsicht zu deuten. Eingebettet wurde in Paraffin.

Was die Färbungen anbetrifft, so waren die Resultate eigentlich recht unbefriedigende. Es fehlt vor allem an einer Protoplasmafärbung, die auch die feinsten Fortsätze der Zellen noch unzweideutig zum Ausdruck bringt und die zugleich schon differenziertes Protoplasma gegen noch undifferenziertes abgrenzen würde. Um diesem Übelstande möglichst abzuhelfen, wurden ganz verschiedene Färbungen benutzt, mit Tannin-Osmiumsäure, mit Methylgrün-Pyronin, mit Gentianaviolett, Thionin, Kongorot; ferner mit einem Gemisch von Orange G. und Fuchsin S. in der von v. Korff angegebenen Weise und die erhaltenen Resultate sorgfältig miteinander verglichen. Sehr schön gelang es, den Zusammenhang von Zellprotoplasma und Knochensubstanz mit Bleu de Lyon nachzuweisen.

Für die Darstellung der Fibrillen liegen die Verhältnisse wesentlich günstiger. Das Verfahren nach Mallory und eine Färbung mit Blauschwarz (Heidenhain: Zeitschrift für wissenschaftliche Mikr., Bd. 25, April 1908) waren sehr geeignet. Auch eine von Hornowsky angegebene modifizierte Dreifärbung nach van Gieson (Zentralbl. f. allg. Path. u. path. Anat., Bd. 19, 18) und eine Färbung der Präparate mit Heidenhainschem Eisenhämatoxylin und Nachfärben mit Fuchsin S., eine Methode, die auch v. Korff für seine Präparate verwendet hat, ergaben in bezug auf die Fibrillen ganz gute Resultate. Nur soll gleich hier angefügt werden, dass die Fibrillen sich nicht ausschliesslich mit sauren Farbstoffen färben, sondern auch mit basischen, z. B. mit Anilinblau, und dass zur Diagnose von verschiedenartigen Fibrillen ihre Acidophilie bezw. Basophilie nicht herangezogen werden darf, da dies keine konstanten und vor allem keine zuverlässigen Eigenschaften sind. Auch ein Unterschied in der verkalkt gewesenen und noch unverkalkten Knochensubstanz, der sich in einer verschiedenen Affinität zu basischen und sauren Farbstoffen äussern sollte, wie v. Korff angibt, konnte nicht gefunden werden. Mit allen Farbstoffen, die zur Anwendung

kamen, färbte sich der Knochen in den zentralen Partien intensiver, aber nicht anders als in den peripheren, oder die Farbe konnte bei regressiver Färbung nur langsamer ausgezogen und differenziert werden; es bleiben z. B. nach der Färbung mit Heidenhainschem Hämatoxylin bei der Differenzierung mit Eisenalaun die inneren Teile des Knochenbälkchens viel länger schwarz als der Rand. Bei schon sehr dicken Knochen (ca. 50 μ) gelingt eine Differenzierung überhaupt nicht mehr; doch darf dieses Verhalten kaum der Anwesenheit von Kalksalzen zugeschrieben werden. Ausserdem zeigte das Innere des Knochenbälkchens immer eine homogenere Färbung als der Saum und Fibrillen liessen sich nur sehr schwer oder gar nicht sehen. Eine Vorbehandlung der Schnitte mit 5%iger Salpetersäure ergab genau die gleichen Resultate, selbst wenn sie bis zu 48 Stunden in der Säure belassen wurden. Schon vorhandene Kalksalze waren durch die Fixierungsflüssigkeiten herausgelöst worden. Nach v. Korff müsste durch die Salpetersäure das die Fibrillen verklebende Bindemittel entfernt werden, was aber nicht der Fall ist. Auch ist dieses Bindemittel nicht ausschliesslich basophil, denn es färbt sich z. B. sehr stark mit Fuchsin S., dagegen nicht mit Thionin.

So verschieden die Bilder, die man mit den verschiedenen Färbungen erhielt, auch waren, so stimmten wenigstens alle darin überein, dass sie das Protoplasma der Osteoblasten nirgends homogen erscheinen liessen, dass sie Beziehungen zwischen Zellen und Fibrillen erkennen liessen und dass sie überall die gleichen Form- und Aufbauverhältnisse der Osteoblasten zeigten.

Es gehört der Unterkiefer zu denjenigen Knochen, die nicht knorpelig präformiert sind, sondern direkt aus dem Bindegewebe entstehen. Und zwar muss ganz besonders betont werden, dass es sich nicht einfach um die Umwandlung und Verknöcherung von fertigem Bindegewebe handelt. Es geht die erste Entstehung des Knochens viel weiter zurück in eine Zeit, in der überhaupt noch kein eigentliches kollagenes Bindegewebe vorhanden ist. Hierin liegt auch der Hauptunterschied gegen den perichondral und periostal gebildeten Knochen; es soll darauf später noch kurz zurückgekommen werden.

Der Knochen entwickelt sich direkt aus dem lockeren embryonalen Mesenchym, das die Grundlage alles Stützgewebes

bildet. Dieses Mesenchym besteht vorwiegend aus ziemlich grossen weit verzweigten Zellen, die in einer Flüssigkeit, von Studnička „Urlymphe" genannt, verspannt sind. Letztere ist an den Schnitten natürlich nicht mehr nachzuweisen, sie muss aber angenommen werden. Im übrigen ist sie für das weitere belanglos.

Wichtig sind vor allem die Zellen. Sie zeigen zahlreiche Ausläufer, die mit denen benachbarter Zellen anastomosieren. Die Form dieser Fortsätze ist sehr verschieden; sie sind oft lang ausgezogen, oft ganz kurz; manchmal erscheinen sie breit, manchmal so fein, dass man sie kaum verfolgen kann. Wahrscheinlich sind sie häufig segelförmig und merkwürdig gewunden, daher das verschiedenartige Bild. Die flächenförmig ausgebreiteten Fortsätze sind natürlich auch wieder durchbrochen. Auch um die Zellkerne ist meistens das Protoplasma nicht wesentlich stärker angesammelt.

Das Protoplasma färbt sich sehr schwach selbst mit spezifischen Protoplasmafarben, was vielleicht auf grossen Wasserreichtum zurückgeführt werden kann. Darauf weist auch die gallertige Konsistenz des Gewebes hin. Dass es sich aber doch um eine wenn auch noch so schwach gefärbte Substanz handelt, ist daraus erkennbar, dass zwischen den kleinsten undeutlichen Lücken des protoplasmatischen Netzes grössere sich finden, die ganz deutlich ungefärbt und von scharfem Rande begrenzt sind. Es sieht aus, als wären in eine protoplasmatische Grundmasse Hohlräume verschiedenster Form und Grösse eingelegt, die je weiter sie sich vom Kern entfernen umso grösser werden, je näher sie dem Kern liegen bis zu winzigen Hohlräumen zusammenschrumpfen, die wie Vakuolen aussehen (Fig. 2). Der syncytiale Zusammenhang der Zellen lässt sich deutlich erkennen, wo zwei Kerne nahe beieinander liegen und durch breitere protoplasmatische Züge verbunden sind; dann auch an solchen Stellen, wo das Gewebe schon etwas kernreicher und dichter geworden ist, z. B. um die Anlage der Chorda oder unter der Epidermis; auch Fäserchen sind hier schon reichlicher vorhanden; nur sind es meist noch keine scharf konturierten Fibrillen, sondern körnige Gebilde (Fig. 3). In späteren Stadien machen die bereits reichlich entwickelten Fibrillen das Bild unklar; man tut daher gut, nur sehr junge Embryonen zu untersuchen. Das Protoplasma färbt sich allerdings häufig um die Kerne und in den stärkeren Ausläufern etwas kräftiger,

was leicht zur Täuchung Anlass geben kann, als seien einzelne Zellen in einer fast farblosen Grundsubstanz suspendiert. Die stärkere Färbung tritt aber durchaus nicht immer deutlich auf; auch nicht an allen und stets an den gleichen Stellen, so dass sie wohl kaum als etwas Spezifisches angesehen werden dürfte. Vielleicht ist sie der Ausdruck einer ersten Differenzierung der indifferenten Mesenchymzellen, die sich vorerst nur in einer grösseren Dichte des Protoplasmas äussert.

Das Protoplasma der Zellen ist nirgends homogen; es zeigt überall eine wabige Struktur. Die Waben erscheinen unmittelbar in der Umgebung der Kerne kleiner als am Rande der Zelle und nehmen mit Entfernung der Kerne zu, so dass sie als kleinere und grössere Vakuolen erscheinen.

Allenthalben findet man zwischen den Maschen des Netzes grosse vereinzelte Zellen, die sich aus dem syncytialen Verbande gelöst haben. Ihr Protoplasma zeigt den gleichen wabigen Bau mit Vakuolen. Sie erweisen sich darnach als selbständig gewordene kernhaltige Teile des wabig-vakuolär gebauten protoplasmatischen Syncytiums. Welche Bedeutung und welche Funktion diese Zellen haben, braucht hier nicht besprochen werden. Sie zeigen noch keine spezifische Veränderung. Vielleicht stehen sie in irgend welcher Beziehung zur Blut- und Lymphbildung. Ausser zahlreichen mit Blutzellen dicht erfüllten Lücken kann man überall im Gewebe verstreut einzelne Blutzellen antreffen, manchmal wie von den feinen protoplasmatischen Ausläufern der Zellen umsponnen. Wahrscheinlich gibt es bei so jungen Embryonen im Mesenchym stellenweise noch keine Trennung des Blut- und Lymphapparates, noch keinen vollständig geschlossenen Kreislauf, sondern die Ernährungsflüssigkeit zirkuliert frei durch die Maschen des lockeren Gewebes.

Vereinzelte Blutzellen findet man auch noch im Mesenchym, das bereits angefangen hat Knochensubstanz zu bilden, also im osteogenen Gewebe; zwischen den schon fertigen Knochenbälkchen aber liegen sie nirgends mehr frei, sondern schon deutlich in mehr oder weniger weite Endothelröhren eingeschlossen.

Die Kerne der Mesenchymzellen sind gross, hell, meist rund oder oval; das reichliche Chromatin erscheint in Körnchen aufgereiht; ein Kernkörperchen ist vorhanden. Sonst bieten sie nichts Bemerkenswertes.

Eine bestimmte Orientierung der Zellen nach einer Richtung, die in der Lage der Kerne und der Zellfortsätze zum Ausdruck käme, ist nicht vorhanden; sie stehen ganz gleichmässig nach allen Dimensionen verteilt. Nur da, wo sich das Mesenchym gegen fremdes Gewebe abgrenzt, sind die Kerne mehr länglich und nach einer bestimmten Richtung angeordnet; hier ist auch die Faserbildung schon viel ausgeprägter. Dasselbe gilt für denjenigen Teil des Mesenchyms, der später zum Periost des Unterkiefers wird.

Aus diesem netzförmig angeordneten vollständig indifferenten Mesenchym entwickelt sich der Knochen.

Der fertige Bindegewebsknochen besteht ausser den eingelagerten Zellen im wesentlichen aus drei Bestandteilen: aus sogenannten kollagenen Fibrillen, aus einer organischen Substanz, welche dieselben verkittet und zusammenhält, die ich mit Mollier als Bindemittel bezeichnen werde, und aus den anorganischen Salzen.

Ich gehe bei der folgenden Beschreibung zunächst von einem nicht mehr ganz jungen Stadium aus, wie es ungefähr auch den Bildern zugrunde liegt, die v. Korff in seinen Abhandlungen gegeben hat.

Das was bei der Betrachtung des werdenden Knochenbälkchens am meisten auffällt, sind die Fibrillen (Fig. 1), sie sollen daher auch zuerst besprochen werden. Es handelt sich bei ihrer Entstehung im wesentlichen um drei Fragen: nämlich ob sie, wie v. Korff annimmt, schon vor der Bildung der Grundsubstanz, des Bindemittels, vorhanden sind; zweitens, wie weit sie sich in ihrer Entstehung zurückverfolgen lassen; und endlich, ob sie von Zellen abstammen und von welchen, oder ob sie für sich in einer Substanz entstehen, die dann als Intercellularsubstanz von Zellen abgeschieden worden sein müsste? Sobald man das letztere annimmt, werden die anderen Fragen hinfällig; im übrigen ergibt sich eine aus der andern.

Vom Rande des Knochenbälkchens lassen sich Fibrillen ins umliegende Gewebe hinaus verfolgen; sie gehen fast senkrecht vom Knochen ab, indem sie sich dabei in merkwürdiger Art zu Bündeln zusammenlegen, wie dies schon von v. Korff beschrieben worden ist (Fig. 1). Nur selten verlaufen sie einzeln und parallel zueinander; doch kommt auch dieses vor. In den frisch ge-

bildeten Knochenpartien lassen sich diese Faserbündel gut erkennen und weiter verfolgen; sie lösen sich meist wieder in dünne Bündel oder einzelne Fasern auf, die sich nicht mehr geordnet nebeneinander legen, sondern untereinander und mit Fasern anderer benachbarter Bündel zu einem dichten Filz verflechten. Das Gerüst, das auf diese Weise entsteht, ist nach jeder Richtung hin gleich gebaut; wie man den Schnitt auch legen mag, man erhält immer dasselbe Bild. Es verlaufen also die Fibrillen nicht vorherrschend in einer bestimmten Richtung; auch von einer Anlage des Knochens in getrennten Lamellen, in welchen die Fasern geordnet senkrecht aufeinander stehend verlaufen würden, ist keine Rede. Allmählich verschwindet das dichte Fasernetz unter dem die Fibrillen verklebenden Bindemittel.

Man gewinnt entschieden den Eindruck, als entstünden die Fibrillen vor der Anlage des Bindemittels, wie dies auch v. Korff mehrfach ausdrücklich betont hat. Wenn man den Begriff des Bindemittels nur für diejenige Masse gelten lässt, die als scheinbar homogene Intercellularsubstanz die Fibrillen markiert, so hat er allerdings recht. Verfolgt man aber die Entstehung dieses Bindemittels, von welcher später noch ausführlich die Rede sein wird, so muss man zu der Überzeugung kommen, dass der Begriff in obigem Sinne viel zu eng gefasst ist. v. Korff sagt: „Als zweiter unwesentlicher Bestandteil entwickelt sich die Kittsubstanz (formlose Intercellularsubstanz), welche die Widerstandsfähigkeit des Gewebes erhöht und in welche die Einlagerung von Kalksalzen durch chemische Prozesse erfolgt. Sie maskiert die Bindegewebsfibrillen, ist basophil.“ Woher diese Kittsubstanz kommt, ist nirgends erwähnt und doch kann sie nicht einfach plötzlich aufgetaucht sein. An einer anderen Stelle sagt v. Korff von den Osteoblasten, „dass diese nur in den Knochenkanälchen gelegene Fortsätze entwickeln und in den basophilen Körnern des Zelleibes wahrscheinlich die später in die Grundsubstanz eingelagerte Interfibrillärsubstanz, wie wir es auch für die Knochenzellen annehmen müssen“. v. Korff unterscheidet also doch noch neben der Interfibrillärsubstanz eine besondere Grundsubstanz, die, wie aus obigem hervorgeht, vor der ersteren da gewesen sein muss. Genauer ist diese Grundsubstanz aber nicht beschrieben und auch von ihrer Entstehung ist nichts gesagt. Dass aber eine solche Trennung eines eigentlich einheitlichen

Begriffes wesentlich zur Unklarheit beiträgt und nur zu Verwirrungen Anlass geben kann, wird niemand bestreiten; es soll daher im Folgenden die Substanz, welche die Fasern verbindet, gleichviel welche chemische oder physikalische Veränderung sie während des Prozesses der Ossifikation erleidet, und ohne Rücksicht darauf, wie sie sich morphologisch darstellt, mit Bindemittel bezeichnet werden, sobald sie als ein von der Zelle deutlich getrennter Bestandteil erkannt werden kann. Was noch unzweifelhaft zum Zelleib gehört, ist Protoplasma, mag es nun schon eine gewisse Differenzierung eingegangen sein oder nicht. In diesem Sinne erscheint es auch nicht mehr ganz berechtigt, zu sagen, dass die Fibrillen vor dem Bindemittel da seien. Sie fallen wohl mehr ins Auge und sind vielleicht in ihrer Art schon weiter differenziert als die Substanz, die sie zusammenhält; es ist aber ein logisches Postulat, dass das Bindemittel gleichzeitig mit den Fibrillen entsteht. Jedenfalls kann von einem Auswachsen der Fibrillen aus dem Ort ihrer Genese zum Ort ihrer technischen Verwendung, wie es v. Korff für Knochen- und Pulpafibrillen, und neuerdings auch Heinrich für die Pulpa angibt, nicht die Rede sein. Ebensowenig können Fibrillen nachträglich in eine schon vorgebildete Grundsubstanz hineinwachsen; entweder die Fibrillen entstehen mit ihr zusammen oder sie treten erst sekundär in ihr in Erscheinung, wie es auch v. Ebner annimmt.

Da die Fibrillen viel mehr ins Auge fallen, als das in jungem Zustande noch fast unsichtbare Bindemittel, so ist es auch leichter, sie zu verfolgen bis in das Gewebe, aus welchem sie ihre Entstehung nehmen. Sie treten vom Rand des Knochenbälkchens bündelweise weg und laufen zwischen den als Osteoblasten bezeichneten Zellen hindurch. Dabei lösen sich die Bündel allmählich wieder pinselförmig in einzelne Fasern auf. Diese lassen sich weit hinaus verfolgen in ein Gewebe, das morphologisch vollständig indifferent ist, höchstens durch seine Lage in der Umgebung des Knochens als osteogenes angesprochen werden darf. Dieses Gewebe zeigt einen lockeren Bau, die Zellen verhalten sich ganz wie die früher beschriebenen, es handelt sich in der Tat um erstes indifferentes Mesenchym. Unterzieht man dieses nun nochmals einer genaueren Betrachtung, so zeigen sich überall, bald mehr, bald weniger deutliche Fibrillen

(Fig. 2). Zu ihrer Charakteristik ist wenig zu sagen; überall findet man sowohl Längs- als Querschnitte, es ist aber keine bestimmte Richtung vorherrschend. Zuweilen treten mehrere Fibrillen zu einem Bündel zusammen. Sie sind nicht gleich dick und verlaufen, soweit man sie im einzelnen verfolgen kann, nicht immer gerade gestreckt, sondern leicht wellig, manchmal auch gewunden, indem sie den Verlauf der Netzmaschen betonen. In der Nähe des Knochens liegen die Fibrillen den Osteoblasten manchmal sehr dicht auf, als ob sie in engem Zusammenhang mit ihnen stünden. Es ist auch tatsächlich häufig unmöglich, nachzuweisen, dass die Fibrille von der Zelle getrennt sei; ebenso oft aber verlaufen die Fibrillen deutlich von den Zellen isoliert. Dass die Bilder v. Korffs hier nicht ganz mit der Wirklichkeit übereinstimmen, hat schon v. Ebner erwähnt; es sind zwischen den Fasern überall nur die Kerne, nirgends aber Protoplasmaleiber der Zellen eingezeichnet.

v. Korff betont, dass eine Beteiligung der Osteoblasten an der Bildung der kollagenen Fibrillen unmöglich sei. Verfolgt man die Fibrillen weiter hinaus, so muss man zu derselben Anschauung gelangen trotz des zweideutigen morphologischen Verhaltens. Ich möchte letzteres dahin deuten, dass zwar genetisch die Osteoblasten nichts mehr mit den Fibrillen zu tun haben, dass sie aber bei der raschen Entwicklung des Gewebes nicht mehr Zeit gehabt haben, sich vollständig von den Fasern loszulösen. Auch dürfte dieses Verhalten mit hinweisen auf einen früheren innigen Zusammenhang von Zelle und Fibrille. Immerhin möchte ich auch gerade deshalb die Osteoblasten von der Fibrillenbildung nicht vollständig ausschliessen und glaube, dass sie unter bestimmten Bedingungen wieder die Fähigkeit erhalten, sich an der Fibrillenbildung zu beteiligen. v. Ebner hat an der Oberfläche der Odontoblasten Fäserchen gesehen und dargestellt, Mallory, Bielschowsky und auch mir sind an manchen Stellen ähnliche an der Oberfläche der Osteoblasten ihrer Längsachse parallel verlaufende Fäserchen aufgefallen (Fig. 4).

Hiermit wären wir bereits zu der viel umstrittenen Frage nach der Entstehung der Fibrillen gekommen. Da sich die Knochenfasern bis zum Mesenchym zurückverfolgen lassen, wird man hier auch ihre Entstehung studieren müssen. Die Schwierigkeiten dabei sind aber sehr gross, eben weil es noch kein zu-

verlässiges Mittel gibt, um differenziertes Protoplasma von noch undifferenziertem zu trennen, und weil das wasserreiche, fast flüssige Protoplasma Farbstoffe nur sehr schwer annimmt. Bei intensiver Beleuchtung und Abblendung kann man sehen, dass die Fibrillen mit den feinen, kaum sichtbaren Netzmaschen verlaufen, manchmal dicht neben einem Kern vorbei, manchmal sogar ein Stück um den Kern herum (Fig. 2). Niemals verläuft eine solche Faser durch eine grössere, vollständig ungefärbte Lücke im Gewebe, welche intra vitam von der „Urlymphe" erfüllt gewesen sein muss, und die sicherlich kein Protoplasma enthält. Eine gewisse Beziehung der Fasern zur Zellsubstanz ist also doch da. Studiert man eine scheinbar frei verlaufende Fibrille genauer, so zeigt sich, dass ihre Konturen gar nicht so scharf sind. Sie ist umgeben von einem dünnen, äusserst schwach gefärbten, oft kaum sichtbaren Belag, den man wegen seiner geringen Dicke für homogen erklären möchte. Wahrscheinlich ist es gar nicht homogen, sondern eine lang ausgezogene, äusserst feine Lamelle von Protoplasma, die der jungen Faser wie ein Mantel aufliegt. Dass dieser Belag nicht immer da ist, sondern mit der Selbständigkeit der Fibrille und ihrer weiteren Differenzierung verschwindet, ist wahrscheinlich; ich habe ihn auch nur an der Faser des jungen undifferenzierten Mesenchyms wahrnehmen können. Schon an den Fibrillen des vorhandenen Knochenbälkchens findet er sich in der Regel nicht mehr.

Zwischen den gröberen und feineren deutlich ausgebildeten Fibrillen zeigen sich zahllose feinste faserige Gebilde, die keine deutliche Kontur besitzen, sondern aus aufgereihten Körnchen zu bestehen scheinen und durchaus unregelmässig sind (Fig. 3). Sie sind kürzer und laufen nach allen Richtungen durcheinander, besonders die Konturen der Netzmaschen andeutend. Wahrscheinlich sind sie identisch mit den „Plasmafäserchen" v. Ebners und den „Tonofibrillen" Studničkas und stellen eine Vorstufe der fertigen Fibrillen dar. v. Ebner leugnet die Entstehung kollagener Fibrillen aus sichtbaren Körnchen, seine Protoplasmafäserchen sind selbständige Gebilde, die mit den Fibrillen nichts zu tun haben; es scheint, „dass die Fibrille sofort als solche entsteht". Dagegen sprechen aber die zweifellosen an Fibrillen beobachteten Wachstumsvorgänge. Studnička nimmt ausser den selbständigen Tonofibrillen noch andere Fasergebilde an,

die er für Fortsätze des meist spindelförmigen Zellkörpers hält und von welchen er glaubt, dass sie mit der Tonofibrillenbildung im Zusammenhang stehen. Trotzdem lässt er an anderer Stelle Tonofibrillen selbständig im Innern eines zellfreien Grundsubstanzgewebes entstehen (Gallertgewebe von Amphioxus, Glaskörper).

Sobald man annimmt, dass die Fasern aktiv von Zellen gebildet werden, ist es gleichgültig, ob sie mehr im zentralen oder peripheren Teil der Zelle entstehen; das letztere ist das wahrscheinlichere, da ja die Fibrillen hauptsächlich mit den Zellausläufern verlaufen. Da wo sie zuerst auftreten, lässt sich meist noch kein sichtbarer Unterschied feststellen zwischen Exoplasma (Randplasma) und Endoplasma, obwohl damit nicht geleugnet werden soll, dass schon ein Unterschied vorhanden sein kann. Ferner ist es für die Weiterentwicklung der Fibrillen als solche einerlei, ob sich mit ihnen ein Teil des Protoplasmas der Zelle loslöst, oder ob sie einfach als schon fertige Gebilde aus der Zelle hinausgeschoben werden; ebenso ist es gleichgültig, ob die Trennung früher oder später erfolgt. Es wird dies sehr verschieden sein können und wesentlich davon abhängen, zu welchem Zweck die Fibrille gebaut wird, und aus welchem Material sie besteht. Einen bestimmten Charakter erhält sie erst dann, wenn man sie ihrer chemischen Natur nach genauer bestimmen kann. Für uns hier ist das wesentlichste die funktionelle Bedeutung, und so glaube ich auch, dass für den Bau des Knochens vor allem die Faser als solche massgebend ist und ihre chemische Natur gar nicht oder wenigstens nur soweit in Betracht kommt, als sie Einfluss hat auf das physikalische Verhalten der Fibrillen. Damit wäre auch die Streitfrage, ob die ersten Fibrillen kollagen sind oder nicht, als etwas ganz unwesentliches erledigt. Wahrscheinlich haben sie in ihren Frühstadien eine ganz andere chemische Zusammensetzung, als im fertigen Knochen. Es hat auch noch niemand mit Sicherheit bewiesen, dass alle bis jetzt für kollagen gehaltenen Fasern wirklich aus demselben Kollagen bestehen.

Ob sich alle Zellen des Mesenchyms oder nur einige an der Fibrillenbildung beteiligen, ist bei dem dichten Gewirr der Fortsätze unmöglich zu entscheiden: sicherlich aber haben jene Zellen, die sich schon ganz frühzeitig aus dem Verband der anderen getrennt, nichts mehr mit der Faserbildung zu tun.

Mit dem Nachweis, dass ein genetischer Zusammenhang zwischen Zelle und Fibrille besteht, ist freilich noch lange nicht bewiesen, wie und woher die letztere eigentlich ihren Ursprung nimmt. Die meisten Autoren führen sie auf körnige oder fädige Strukturen des Protoplasmas zurück (Flemming, Studnička, Meves, Golowinski u. a.). Bei der Mannigfaltigkeit dieses Gewebes ist es ja denkbar, dass die Fibrillen nicht immer auf die gleiche Weise entstehen; ich erinnere nur an die Arbeit v. Ebners über die Entwicklung der kollagenen Fibrillen in der Chordascheide niederer Fische.

Vorerst soll nur betont werden, dass die Fibrillen vorhanden sind und dass sie von Zellen des Mesenchyms gebildet werden, im Gegensatz zu jenen Autoren (Merkel, Laguesse u. a.), welche sie in einer amorphen Grundsubstanz entstehen lassen. Woher kommt nun aber jenes Bindemittel, das die Fasern zusammenkittet und für den Bau des Knochens ebenso wichtig ist, als diese selbst? Schon oben wurde gesagt, dass das Bindemittel gleichzeitig mit den Fasern entstehe; es sind also auch für dieses die ersten Anfänge im Mesenchym zu suchen. Verfolgt man das lockere syncytiale Gewebe gegen das Knochenbälkchen zu (am besten auf Horizontalschnitten am proximalen Ende des Bälkchens), wo noch keine Anlage des Periosts sich findet, so sieht man zunächst nichts weiter als eine starke Wucherung des Gewebes (Fig. 5). Die Zellen werden zahlreicher, die Kerne dichter gedrängt. Man findet hier auch viel häufiger Karyokinesen als sonst im Mesenchym, und zwar ist es auffällig, dass diese Teilungsfiguren sich meist in ziemlicher Entfernung vom Knochenbälkchen befinden am äusseren Rand des jungen „osteogenen" Gewebes. Die Zellen werden von aussen her nach der Mitte zu vorgeschoben; nur selten findet man eine Karyokinese in der Nähe des Knochens. Es sind also noch indifferente Zellen, die sich teilen. Das junge Gewebe ist ausserordentlich gut ernährt; viele grössere und kleinere Gefässbahnen, die nur eine Endothelwand besitzen, kommen bis dicht an den schon fertigen Knochen heran, laufen bisweilen (höchst selten) zwischen den Knochenlamellen hindurch. Auch vereinzelte Blutzellen finden sich noch immer in den Netzmaschen des Mesenchyms, niemals aber zwischen den schon fertigen Knochenspangen. Die Kerne werden kleiner; ebenso die Protoplasmaleiber der Zellen; die Regeneration auf den ursprünglichen Be-

stand kann mit der Teilung offenbar nicht gleichen Schritt halten. Die Struktur der Kerne zeigt keine Veränderung; auch das Protoplasma ist noch wabig wie zuvor und zeigt hin und wieder Vakuolen. Die Netzmaschen zwischen den Plasmafäserchen werden viel kleiner; sie zeigen keine bestimmte Form, sind meist von rundlicher Gestalt. Es sieht aus als ob das Gewebe sich gleichmässig verdichten würde. Freie aus dem Syncytium losgelöste Zellen, die wie die schon mehrfach erwähnten an die „ruhenden Wanderzellen" Maximows erinnern, habe ich nur mehr an einem Präparat gefunden. Das Gewebe ist schon nicht mehr ganz indifferent. Nach aussen zu scheinen die Maschen etwas in die Länge gezogen und die Kerne flacher, hier ist der Übergang zum Periost. Hier ist auch die Faserbildung am deutlichsten. Je näher man an das fertige Knochenbälkchen herankommt, desto schärfer geprägt und desto dichter werden die Fibrillen. Sie bilden oft schon dicke Balken, die um die Netzmaschen herumlaufen; überall zeigen die Fasern deutlich eine Tendenz sich zu Bündeln zusammenzulegen. Ganz allmählich färbt sich auch das Protoplasma intensiver (Fig. 6 a und b), wird offenbar wasserärmer, konsistenter; dabei behält es stets seine wabige Struktur. Nun kann man auch deutlich erkennen, dass die Fibrillen im Protoplasma verlaufen und zwar immer am Rande der Netzmaschen.

Gleichzeitig macht sich im Syncytium eine Differenzierung bemerkbar, es ändert sich das um den Kern gelegene Protoplasma; es zeigt einen anderen Farbenton, ist meist etwas dunkler und erscheint zuerst als ein schmaler, dem Kern dicht anliegender Ring, der sich allmählich verdickt. Auch eine Änderung in der Struktur wird bemerkbar; die Waben werden deutlicher und grösser, die grösseren Vakuolen dagegen zusammengedrückt, so dass sie häufig nicht mehr zu sehen sind; dem Ganzen bleibt aber der schaumige Charakter erhalten. Jetzt wäre der Moment gekommen, wo man wirklich zwischen Exoplasma und Endoplasma unterscheiden könnte. Dieses Stadium ist aber offenbar ein sehr rasch vorübergehendes, denn man muss oft viele Präparate durchmustern, ehe man an einer Serie solche Bilder deutlich erkennen kann.

Das in Umbildung begriffene Protoplasma entwickelt sich nicht gleichmässig um den Kern; es verdickt sich nach einer Seite hin, sodass der Kern ganz exzentrisch liegt, wie in ein Schüsselchen

eingebettet. Das ganze Gewebe wächst kräftig (Fig. 6 a), die Kerne werden mit dem Protoplasmaleib wieder grösser und die einzelnen Zellen mehr auseinander gedrängt. Der Hauptzweck ist jetzt offenbar nicht mehr Vermehrung der Zellen, sondern innere Ausgestaltung. Hohlräume zwischen den Maschen des ursprünglichen Netzes sind kaum noch vorhanden (Fig. 6 b), sie werden ausgefüllt durch die Anlagen der ersten Knochensubstanz (= Bindemittel + Fibrillen), die mit den Zellen mächtig gewuchert ist.

An der Struktur der Kerne ändert sich so gut wie nichts; sie sind gleich hell und gross wie früher; die Chromatinkörnchen ballen sich manchmal zu kleinen Schollen zusammen, die der Kernmembran perlschnurartig aufsitzen. Auch das Kernkörperchen ist immer vorhanden.

Fast gleichzeitig mit der Differenzierung in Exoplasma und Endoplasma tritt eine Lösung des ersteren von diesem ein (Fig. 6 b). Das Endoplasma mit dem Kern wird zu einer neuen Zelle, in diesem Falle zum Osteoblasten; das Exoplasma mit den Fibrillen besteht für sich weiter. Da es sich aber bereits um eine hoch differenzierte, vom eigentlichen Zellprotoplasma sehr verschiedene Substanz handelt, ist es besser, von Exoplasma nicht mehr zu reden, sondern gleich Bindemittel zu sagen. Studnička beschreibt für die Umwandlung des Gewebes der jungen Zahnpapille bei Selachiern ganz ähnliche Vorgänge: „Auf einmal sieht man, dass sich in der Umgebung der Zellkerne eine etwas dichtere granuläre Plasmaart ansammelt, während das übrige Plasma der ehemaligen Zelle mehr hyalin wird. Jene Ansammlung präsentiert sich uns als ein neuer Zellkörper, als eine junge Bindegewebszelle, das übrige Plasma dagegen als eine Grundsubstanz.“ Nach seiner Ansicht entstehen auch die gallertigen scheinbar homogenen Grundsubstanzen vieler Wirbellosen auf ähnliche Weise, selbst wenn in fertigem Zustand ihre exoplasmatische Natur sich kaum mehr erkennen lässt. Auch Waldeyer betont mehrfach, dass Grundsubstanzen, zu denen ja auch das Bindemittel der Knochenfibrillen gehört, nicht durch eine Sekretion der Gewebszellen entstehen, sondern durch eine Metamorphose ihres Protoplasmas.

Bei der Trennung von Bindemittel und Osteoblast entsteht um letzteren ein kleiner Hohlraum, dessen Wand durch die Fibrillen versteift wird, die nun ihrerseits wieder eine Stütze

für das weiche Bindemittel abgeben. In diesem Stadium sieht der junge Knochen dem Knorpel sehr ähnlich. Wenn man die Arbeiten Schaffers über die Entwicklung des Knorpels vergleicht, so ergibt sich, dass der Schritt vom Knorpel zum Knochen nur ein kleiner ist. Ein prinzipieller Unterschied ist in der Entwicklung beider nicht vorhanden, die enchondrale Osteogenese natürlich ausgenommen. Auf Grund seiner Untersuchungen gelangt Schaffer zu der Ansicht, dass auch die Entstehung des Knochengewebes in derselben Weise verläuft, indem indifferente Zellen zu Osteoblasten werden und eine Grundsubstanz erzeugen, die fibrilläre Beschaffenheit annimmt und in welche ein Teil der Bildungszellen als Knochenzellen eingeschlossen werden. Es soll hier nur betont werden, dass für den Bindegewebsknochen die Entstehung der Fibrillen zeitlich vor die der Grundsubstanz fällt oder mit ihr zusammen, jedenfalls aber nicht später. Ebenso gilt für den Knochen wie für den Knorpel, dass das Auftreten der ersten Intercellularsubstanz als gemeinsames Produkt der Zellkörper aufgefasst werden muss, das an Stoffwechsel- und Wachstumsvorgängen derselben noch weiter Anteil nimmt; ausserdem dass die erste Anlage der morphologisch sich als Knorpel oder Knochen abgrenzenden Zellmassen eine syncytiale ist, und dass diese Grundsubstanz, obwohl nicht mehr in unmittelbarem Zusammenhang mit den Zellen ihren mikrochemischen und physikalischen Charakter ändern kann.

Die jungen Zellen lösen sich zum Teil vollständig von dem rasch sich weiter entwickelnden Bindemittel los, zum Teil bleiben sie aber auch durch allerfeinste Fortsätze damit im Zusammenhang (Fig. 8). Noch längere Zeit nach der Trennung von der Zelle lässt sich die wabige Struktur des Bindemittels deutlich erkennen; allmählich wird sie jedoch verändert. Die Waben bleiben wohl erhalten, sie werden aber sehr dicht und klein und schliesslich so fest zusammengeschoben, dass man sie nicht mehr erkennt. Hand in Hand damit geht dann eine physikalische und chemische Veränderung des Bindemittels; es färbt sich immer stärker und ähnlicher den Fibrillen, so dass es schliesslich diese ganz verdeckt. Es bleiben aber die Fibrillen zunächst noch längere Zeit sichtbar. Selbst in den Partien des Knochenbälkchens,

wo ein so rasches Wachstum erfolgt, dass man die vorher beschriebenen Vorgänge nicht mehr im einzelnen verfolgen kann, lassen sie sich noch deutlich erkennen.

Die Fibrillen selbst werden immer kräftiger, schärfer markiert. Sie erscheinen dicker wohl nur deshalb, weil sich mehrere zu einem kleinen Bündel zusammenlegen. Solch kleine Bündel schieben sich dann wiederum zu einem dicken Balken aneinander, der die Grundlage einer Knochenlamelle bildet.

Manche Autoren wollen eine selbständige Teilung und damit Vermehrung der Fibrillen beobachtet haben. Demgegenüber möchte ich nur sagen, dass es mir nicht gelungen ist, an Fibrillen irgend eine Andeutung einer Längsspaltung zu sehen; ich glaube auch nicht, dass einwandfreie Beweise hierfür erbracht werden können. Dass eine kräftige Fibrille sich an ihrem Ende aufsplittert, beweist höchstens, dass es sich nicht um eine einzelne Faser handelt, sondern um mehrere eng beieinander liegende. Zweifellos haben sie einen eigenen Stoffwechsel, wie durch ihr Wachstum bewiesen wird und vor allem auch durch die Veränderung, die sie nach der Trennung von der Zelle noch erleiden; sie sind bis zu einem gewissen Grade wirklich lebende Gebilde. Nimmt man jedoch an, dass sie aus einer amorphen Grundsubstanz durch physikalische Einwirkungen entstehen (v. Ebner, Merkel, Laguesse u. a.), so ist die Annahme einer Vermehrung durch Teilung nicht mehr nötig, da sie ja jederzeit selbständig im Substrat entstehen können.

Eine bestimmte Richtung macht sich bei der Anordnung der Fibrillen nicht geltend, wenigstens in diesen frühesten Stadien noch nicht: die Bündel umschliessen wie gesagt die Hohlräume, die sich um die jungen Zellen gebildet haben und zwar so, dass die dicksten Bündel nach der Peripherie zu liegen. Zwischen den einzelnen Bündeln finden zahlreiche Überkreuzungen statt. So entsteht um die Lücken herum ein dichtes Flechtwerk, das durch das protoplasmatische Bindemittel zu einer zähen Masse zusammengebacken wird. Beides, Fibrillen und Bindemittel, schieben sich immer fester zusammen. Es entstehen schliesslich dünne Lamellen und Spangen, die ein fast homogenes Aussehen bieten; wenigstens ist eine Struktur, die auf ihre Entstehung einen Rückschluss erlauben würde, nicht mehr zu erkennen. Dies

sind die ersten Anlagen von Knochensubstanz, von den anorganischen Bestandteilen noch abgesehen.

Den Knochenlamellen liegen die Zellen an, die sich losgetrennt hatten; sie sehen den ursprünglichen Mesenchymzellen, von welchen sie abstammen, gar nicht mehr ähnlich; wahrscheinlich sind es hochdifferenzierte Zellen mit einer ganz besonderen Funktion. Verfolgt man ihre Entwicklung, so fällt zunächst auf, dass sie wachsen. Sie werden grösser als die Mutterzellen des Mesenchyms. Das Wachstum macht sich zuerst am Kern geltend und während er wächst, verändert er auch etwas seine Form; er wird länglich und zeigt häufig an einer Längsseite eine schwache Delle, sodass er einer Bohne ähnlich sieht. Um ihn dehnt sich das Protoplasma, wie schon erwähnt, fast ausschliesslich nach einer Seite. So gewinnt die ganze Zelle eine eigentümliche sofort auffallende Form. Die Zellen untereinander erscheinen nicht gleich gross, doch kann dieser Unterschied meist dem Schnittbild, das die Zellen bald längs, bald quer, bald schräg trifft, zur Last gelegt werden.

Die Struktur der Kerne zeigt das alte Bild, das Chromatin in Körnchen aufgereiht, manchmal in kleinen Schollen der Kernmembran anliegend. Fast immer ist das Kernkörperchen zu finden.

Am meisten verändert ist das Protoplasma. Während sich früher Einzelheiten im Zelleib nur äusserst schwer erkennen liessen, ist jetzt die wabige schaumige Struktur unverkennbar. Die Affinität zu den verschiedensten Farbstoffen ist im Gegensatz zu früher sehr gross. Es erscheint meist dunkler gefärbt als die Kerne. Sehr deutlich und auffällig treten Vakuolen zutage, wenn sie auch nicht in allen Zellen zu finden sind.

Sie entstehen wahrscheinlich dadurch, dass beim Einziehen der pseudopodienartigen Fortsätze Gewebeflüssigkeit mit eingeschlossen wird; dafür spricht ihr unregelmässiges Vorkommen, ihre sehr verschiedene Grösse. Spuler hat in den Zellen des Amnion von Schafen ebenfalls Vakuolen gefunden; nur schreibt er ihre Entstehung einer anderen Ursache zu. Er vermutet, dass die vakuolären Gebilde „aus sich verflüssigenden Körnchen hervorgehen, die schliesslich platzen und ihren Inhalt in die umgebende Gewebeflüssigkeit ergiessen". Es würde sich demnach um aktive Sekretion, wahrscheinlich von Stoffwechselprodukten handeln. Nur selten habe ich in den Zellen eine deutliche Körnelung gefunden;

so selten, dass ich solche Körnchen lieber als ein zufälliges Produkt irgend einer Reaktion auffassen möchte, denn als etwas für die Zelle Spezifisches. Spuler und v. Korff haben in den Osteoblasten basophile Körnchen gesehen, welche mittels der Zellfortsätze zwischen die Fibrillen transportiert und daselbst als „Interfibrillärsubstanz" abgelagert werden sollen. Auch in seiner neuesten Arbeit betont v. Korff neben der Grundsubstanz noch diese für den Knochen spezifische Interfibrillärsubstanz, in welche die Kalksalze abgelagert werden sollen und sagt: „Ich glaube aber nicht, dass diese aus der ursprünglichen mehr oder weniger flüssigen Interfibrillärsubstanz des lockeren Bindegewebes hervorgeht, sondern von den typischen Knochenzellen bezw. Elfenbeinzellen gebildet wird". Studnička hat in den Odontoblasten von Säugetieren Granulationen gefunden; er hält sie für Kalksalze, die durch die Tomesschen Fortsätze in das Dentin hineingelangen sollen. Derartige anorganische Salze können hier aber kaum in Frage kommen; sie wären durch die Säuren der Fixierungsflüssigkeiten herausgelöst worden. Über die Einlagerung der Kalksalze in Knochen- und Zahnsubstanz ist noch sehr wenig bekannt. Vorerst ist noch sehr fraglich, ob dieser Prozess überhaupt an die Tätigkeit von Zellen gebunden ist; es könnten die Salze ebenso in gelöster Form mit der Gewebsflüssigkeit an Ort und Stelle gebracht und dann ausgeschieden werden; wir wissen auch noch nicht, ob sie in den Fibrillen oder im Bindemittel abgelagert werden. Natürlich kann das Bindemittel durch die Einlagerung der Kalksalze seinerseits wieder chemisch verändert werden, auch dann, wenn es nicht selbst, sondern die Fibrillen mit den Salzen imprägniert werden.

Die für die Mesenchymzelle so charakteristischen Fortsätze sind fast vollständig verschwunden. Manche Zellen liegen deutlich ganz frei in ihren Höhlen, andere wieder hängen durch feine, oft kaum wahrnehmbare Fädchen noch mit dem Bindemittel zusammen (Fig. 9). Man könnte sie anfangs für Schrumpfungsbilder halten. Das dem Kern gegenüber liegende Ende der Zelle erscheint häufig in einem langen Fortsatz ausgezogen; wo man ihn deutlich verfolgen kann, zeigt er dieselbe wabige Struktur wie der Leib der Zelle selbst; es kommt vor, dass er sich schwächer färbt; sicher aber sind die Fortsätze niemals hyalin.

Die jungen Osteoblasten liegen in kleinen von den Knochenbälkchen umschlossenen Höhlen oder aussen am Rand der Bälkchen, manchmal so dicht, dass sie einen epithelartigen Belag bilden. Die kleinen Höhlen umschliessen meist mehrere Zellen (3—5), selten nur eine. Ob sie mit den späteren Knochenhöhlen identisch sind, ist sehr zweifelhaft.

An diesen Zellen lassen sich nie mehr Teilungsfiguren sehen; schon v. Korff erwähnt dies; Gegenbaur und Waldeyer jedoch wollen noch Karyokinesen gesehen haben. Grosse Zellen mit mehreren Kernen (Syncytien) kommen vor; da sie sich aber in mancher Hinsicht von den typischen Osteoblasten unterscheiden, soll später nochmals auf sie zurückgekommen werden.

v. Korff betrachtet die Osteoblasten als sekundäre Erscheinungen gegenüber der fibrillären Grundsubstanz, er schreibt ihnen als einzige Funktion zu, Fortsätze zu entwickeln, mittelst welcher sie in den jungen Knochen eindringen, ihn durchsetzen und auf diese Weise sich untereinander verbindend ein Kanalsystem schaffen zur Regulierung des Stoffwechsels.

Ich bin hier mit v. Korff nicht einverstanden. Vergleicht man die Osteoblasten mit den definitiven Knochenkörperchen, so fällt vor allem ihre Grösse auf, ihre äussere Form (sie sind länglich, nicht sternförmig) und die besondere Struktur ihres Protoplasmas, durch welche sie sich auch von den Mesenchymzellen unterscheiden. Dieser eigenartig wabige Bau ist nirgends erwähnt; v. Korff unterscheidet nur zwischen einem basalen gekörnten und einem peripheren mehr homogenen Abschnitt des Zelleibs ohne darauf näher einzugehen. Andererseits fallen die Osteoblasten durch ihre besondere Lage zum Knochen auf; der Kern liegt nämlich dem Knochen stets abgewendet, d. h. der protoplasmatische Teil sieht gegen den Knochen zu, und zwar meist nach der Seite hin, wo noch am wenigsten Knochensubstanz gebildet ist.

Endlich unterscheiden sich die Osteoblasten von den Knochenzellen noch dadurch, dass sich an den meisten von ihnen keine feineren Fortsätze nachweisen lassen. Eine nachträgliche Entwicklung solcher feiner Ausläufer, die das bereits gebildete zähe Bindemittel und Fibrillen durchwachsen sollen, ist meiner Meinung nach undenkbar.

Fasst man alle diese Besonderheiten zusammen, so muss man zu dem Schluss kommen, dass es entweder gar nicht diese Osteoblasten sind, die in den Knochen eingeschlossen werden oder dass sie sich, wenn sie es doch sind, vorher stark verändern müssen. In dem einen wie in dem andern Fall darf man ihnen dann nicht ein nur mehr oder weniger passives Verhalten beim Stoffwechsel zusprechen, wie v. Korff es tut: man wird vielmehr gezwungen, anzuerkennen, dass ihnen eine ganz spezifische aktive Funktion zukommt. Für eine solche spricht ferner, dass sich an dem glatten Rande eines so ziemlich fertigen Knochenbälkchens keine derartigen Zellen mehr finden, und doch geht auch hier der Stoffwechsel nach wie vor weiter. Einen genauen Einblick in die spezifische Tätigkeit der Osteoblasten zu gewinnen, ist sehr schwer. Seit der Entdeckung der Osteoblasten durch Gegenbaur sind über sie verschiedene Theorien aufgestellt und widerlegt worden, und heute noch ist man sich darüber nicht einig. Nur soviel scheint jetzt sichergestellt, dass sie gewöhnlich mit der Fibrillenbildung nichts mehr zu tun haben. Ich führe nur die neuesten Arbeiten an. v. Korff überträgt ihnen neben der Leitung des Stoffwechsels die Bildung einer von der Grundsubstanz verschiedenen Interfibrillärsubstanz. Studnička glaubt, dass sie hauptsächlich für den Transport der Kalksalze in Betracht kämen, und spricht ihnen den Wert von Drüsenzellen zu, während v. Ebner bei den Odontoblasten wenigstens an der Oberfläche der Zellen Protoplasmafäserchen entstehen sieht, durch deren Ineinanderfliessen die Vorstufe des späteren Dentins, das sogenannte Prädentin, gebildet werden soll. Ob er die gleiche oder eine ähnliche Anschauung für die Osteoblasten hegt, konnte ich nicht finden. Auch Disse macht die Osteoblasten verantwortlich für die Bildung der Grundsubstanz, indem er aus ihrem Protoplasma eine helle, „glasartig aussehende Substanz“ sich herausdifferenzieren lässt, welche einen Knorpelbalken oder eine Lage jungen Knochengewebes überzieht und dann selbst verknöchert. Die Beteiligung der Fibrillen an der Grundsubstanzbildung lässt er ganz ausser acht. Auf ähnliche Weise lässt Novikoff die Grundsubstanz entstehen, nur mit dem Unterschied, dass er ihr von Anfang an eine wabige Struktur zuerkennt, „in welcher sich in bälkchenartigen Fugen zwischen den Wabenreihen feinste fibrillenartige Differenzierungen entwickeln können. Diese zuerst schaumig

wabige Struktur modifiziert sich später zu einer globulitisch wabigen.“ Beide Autoren betonen ausdrücklich, dass die Grundsubstanz ihrer Herkunft nach „umgewandeltes Protoplasma“ sei, nicht aber ein von den Osteoblasten nach Art der Drüsenzellen ausgeschiedenes Sekret. Sie erkennen ihnen also doch eine besondere, für die Weiterentwicklung und das Wachstum des Knochens wichtige und unentbehrliche Funktion zu.

Dass die Randpartien der Osteoblasten im Gegensatz zu den zentralen sich anders verhielten, konnte ich nicht erkennen, ebensowenig, dass ein Teil des Zelleibs sich ablöst und zur Bildung des Bindemittels verwendet wird. Andererseits hat sich aus dem früher Gesagten ergeben, dass die allererste Anlage von Knochensubstanz sich bildet ohne Vorhandensein der Osteoblasten. Man wird also die Erklärung für ihre Funktion an einem etwas späteren Stadium zu suchen haben.

Hier zeigen sich uns in der Tat ganz andere Bilder (Fig. 1), ohne dass sich jedoch an dem Prinzip der Entstehung etwas ändert. Man findet nach wie vor die Fibrillen wo möglich noch reichlicher und dichter als früher: man sieht nach aussen zu das rasch wuchernde Mesenchym, und zwischen diesem und dem Knochenbälkchen unter die Fibrillen verteilt liegen die Osteoblasten, bald nur in einer Reihe, bald in zwei bis drei Lagen über dem Knochen, hie und da fast vereinzelt, dann wieder viele zu Klumpen zusammengeballt. Die einzelnen Vorgänge der Knochenbildung folgen zeitlich so rasch aufeinander, dass man die verschiedenen Stadien nicht mehr so leicht verfolgen kann. Ausserdem geht der Aufbau in einer viel geordneteren Weise vor sich. Die Fibrillen verlaufen nicht mehr kreuz und quer nach den verschiedensten Richtungen durcheinander; sie zeigen eine bestimmte Ordnung, indem sie von aussen her meist senkrecht auf das Knochenbälkchen orientiert sind und von dort nach dem Mesenchym nach allen Richtungen hin ausstrahlen. Dabei werden sie zu dichten Bündeln zusammengeschoben, die meist parallel verlaufen. Diese senden senkrecht zu ihrer Richtung abgehende Fibrillen ab gegen die benachbarten Bündel zu, sodass eigentümliche Bogen entstehen, um welche die Osteoblasten sich gruppieren (Fig. 1). Manchmal liegen zwei, sogar drei solcher „Arkaden“ übereinander und gewähren ein eigenartiges Bild. Studnička hat diese „Fibrillenarkaden“ bei der Dentinbildung von Säugetierzähnen auch gesehen

und beschrieben; von ihm stammt auch der Ausdruck. Je mehr der Knochen in die Dicke wächst, desto undeutlicher werden jene Fibrillensysteme; die Fibrillenbündel werden schwächer und kürzer; der Zwischenraum zwischen Knochen und dem sich nun deutlich zu faserigem Bindegewebe (Periost) umbildenden Mesenchym wird immer kleiner, bis endlich nur noch eine dünne Schicht indifferenten osteogenen Gewebes bleibt, das sich auch späterhin als Cambiumschicht erhält. Vom Periost aus ziehen noch immer vereinzelte Züge meist einzeln nebeneinander laufender Fibrillen zum Knochen und lassen sich bis in das Innere desselben verfolgen. Diese Bildungen sind aber nicht mehr sehr regelmäßig.

Selbst in den groben, auf längere Strecken verfolgbaren Fibrillenbündeln verlaufen die Fasern nicht ganz frei; sie sind hier schon durch eine färbbare interfibrilläre Substanz verbunden, die dem Bindemittel gleichwertig ist und den Zusammenhang mit dem Mesenchym wahrt; ausserdem spannen sich da, wo die Fibrillen auseinander weichen, zwischen ihnen netzige Züge einer Substanz aus, welche deutlich die schaumig wabige Struktur des Protoplasmas erkennen lässt. Auch hier ist der syncytiale Zusammenhang gewahrt.

Sehr rasch erfolgt in den weiteren Wachstumsstadien auch die Loslösung der Osteoblasten aus dem Mesenchym, so dass die Übergänge nicht mehr so gut zu verfolgen sind. Doch zeigen sich stellenweise schon die Mesenchymkerne von einem feinen protoplasmatischen Ring umgeben, in dem die für die Osteoblasten so charakteristischen grossen Wabenstrukturen in Erscheinung treten.

Die Osteoblasten gruppieren sich nicht nach Art eines Epithels um die Knochenlamellen; ich fand im Gegenteil, dass ihre Verteilung eine sehr unregelmässige ist und wahrscheinlich dem jeweiligen Bedürfnis nach Bindemittel entspricht.

Ein Teil der Osteoblasten liegt den Fibrillenbündeln ganz dicht an, so dicht, dass sie an diesem aufgehängt zu sein scheinen (Fig. 9). Liegen mehrere Reihen von Osteoblasten übereinander, so erhält man das Bild einer Kornähre. Dabei zeigt sich, dass immer zwischen zwei Zellen eine oder mehrere Fibrillen hindurch treten. Oft scheint der dem Kern gegenüberliegende Fortsatz in das Fibrillenbündel überzugehen (Fig. 9). Ob hier niemals eine vollständige Trennung erfolgt, d. h. ob die Zelle dauernd im Zusammenhang mit dem Bindemittel blieb, oder ob erst sekundär

eine dichte Anlagerung stattfand, ist schwer zu entscheiden. Beides ist wohl möglich.

Ein Teil dieser den Fibrillen anhaftenden Osteoblasten zeigt gegenüber den frei liegenden Veränderungen, die manchmal so gering sind, dass sie bei flüchtiger Betrachtung kaum auffallen, die aber auch am rasch wachsenden Knochenbälkchen viel häufiger werden als bei der ersten Anlage (Fig. 7).

Der Leib dieser Zellen ist lang ausgezogen; dadurch ist die Zelle schmäler geworden und läuft in einen zipfelförmigen fast spitzen Fortsatz aus. Das Protoplasma färbt sich noch intensiver, dabei lässt es die grossen Vakuolen vermissen, so dass es nicht mehr so schaumig wie früher aussieht. Niemals aber, das soll besonders betont werden, erscheint es hyalin, strukturlos.

Der Kern ist nicht mehr so voll und saftig; er erscheint etwas zusammengepresst, eingeschrumpft: ist aber doch in all seinen Bestandteilen deutlich vorhanden: Chromatin, Nukleolus, Membran. Die ganze Zelle sieht aus, als wäre sie kleiner geworden, ohne es vielleicht wirklich zu sein. Da man von diesen Zellen zu den Osteoblasten alle Übergänge finden kann, darf man wohl annehmen, in ihnen veränderte Osteoblasten vor sich zu haben.

Die einzig mögliche Erklärung für diesen Vorgang der Umbildung sehe ich darin, dass das Protoplasma der Zellen in einer ganz bestimmten Weise verändert wird, damit es schliesslich in das Bindemittel für die Fibrillen mit einbezogen und in solches selbst umgewandelt werden kann. Es ist unmöglich etwas Positives über die Art und Weise dieser Umwandlung zu sagen; ausser jenen Erscheinungen, die höchstens eine Schrumpfung der Zelle erkennen lassen, ist morphologisch nichts nachzuweisen. Wahrscheinlich kommen in erster Linie Vorgänge in Betracht, die sich im Innern der Zelle selbst abspielen. Vielleicht könnte man aus dem Kleinerwerden der Zellen auf eine Abgabe von Zellsubstanz schliessen; jedenfalls könnte eine solche in Form von Fortsätzen, die sich ausstrecken und dann ablösen, oder durch Abschnürung eines Teiles des Zelleibes absolut nicht nachgewiesen werden. Auch würden solche Vorgänge nicht notwendigerweise ein Absterben der Zelle nach sich ziehen; diese könnte sich vielmehr, wie es unter anderen Bedingungen oft genug vorkommt, auf ihren ursprünglichen Bestand regenerieren. Auch wurde schon oben erwähnt, dass die Verkleinerung der Zelle wahrschein-

lich eine Folge des Zusammenschrumpfens ist, nicht eine Folge von wirklichem Substanzverlust. Es werden offenbar zum weiteren Wachstum des Knochens ganze Zellen eingeschmolzen und zum Neuaufbau verwendet, während bei der allerersten Anlage von Bindemittel die Zellen nur einen Teil ihres Protoplasmas abgeben.

Die Beobachtung, dass einzelne Zellindividuen in toto umgewandelt werden zu Substanzen, die funktionell und vielleicht auch dem Bau nach dem Bindemittel der Knochenfibrillen sehr nahe stehen, ist nichts Neues. Schaffer hat beobachtet, dass bei der Anlage des Knorpels ganze Zellen in die Grundsubstanz einbezogen und umgewandelt werden. Für den Knochen finden sich ähnliche Beobachtungen schon bei Waldeyer (1865), doch hat er nur die Tatsache erwähnt, ohne den Vorgang näher zu beschreiben. Ob auch bei der Zahnbeinbildung ganze Odontoblasten in Prädentin umgewandelt werden, kann v. Ebner nicht mit Bestimmtheit sagen, hält es aber sehr wohl für möglich. Gleiche Beobachtungen finden sich bei Laguesse, Hansen und Kölliker. Jedoch ist nirgends etwas Sicheres darüber gesagt, in welcher Weise die Verarbeitung des Protoplasmas vor sich geht. Eine allmähliche Auflösung oder Verquellung der Zelle kommt nicht vor, es sind auch keine Figuren vorhanden, die auf Karyolyse hindeuten würden. Der Kern ist bis zuletzt deutlich sichtbar.

In den grossen von bereits gebildeter Knochensubstanz umschlossenen Höhlen findet man neben typischen grossen, scheinbar frei liegenden Osteoblasten schon veränderte Zellen in den verschiedensten Stadien der Umwandlung. Gerade diese letzteren liegen meist den Knochen sehr dicht an, so dass sie oft schwer von ihm zu trennen sind und doch kann man nicht von einem allmählichen Übergang des Protoplasmas in das Bindemittel reden; die Grenzen bleiben deutlich.

Selbst an dickeren Knochenbälkchen kann man nicht selten vereinzelte degenerierende Osteoblasten mitten im Bindemittel antreffen (Fig. 10 und 7), fast niemals sind diese von einem freien Raum umgeben, der um die intakten Osteoblasten, sowie um die definitiven Knochenzellen niemals fehlt.

Eine Beziehung der Zellen zum Bindemittel muss vorhanden sein und zwar ist dabei in erster Linie das Protoplasma beteiligt. Stets liegt das Protoplasma dem fibrillären Bindemittel zugewandt,

also nach der Seite hin, wo die Bildung von Knochensubstanz am energischsten vor sich geht.

An den Rändern grösserer Knochenbälkchen dagegen, wo das Wachstum gewissermassen abgeschlossen ist, und der zackige Saum glatt zu werden beginnt, also wo Periost oder Perichondrium sich anschliesst, verschwinden die typischen Osteoblasten fast gleichzeitig mit den Fibrillen. Sie scheinen also nicht mehr von nöten zu sein, da wo keine Neubildung von Knochen erfolgt. Selbstverständlich liegen dem Knochenrande auch jetzt noch Zellen an, aber sie sind wesentlich von den Osteoblasten verschieden. Sie gleichen vielmehr solchen, wie sie das schon weiter in der Differenzierung zu kollagenem Bindegewebe vorgeschrittene Mesenchym zeigt, d. h. sie sind kleiner, meist länglich mit in der Mitte liegendem rundem Kern. Auch färbt sich ihr Protoplasma nicht mehr so intensiv und zeigt nicht so deutlich und schön die wabige Struktur. Möglicherweise gehören sie schon dem Periost an. Es ist selbstverständlich nicht ausgeschlossen, dass sie sich, sobald das Bedürfnis es erfordert, zu Osteoblasten um- und ausgestalten können.

Osteoblasten müssen bei der Knochenbildung zugrunde gehen und zwar in nicht geringer Zahl. Dies geht schon daraus hervor, dass im fertigen Knochen die Zahl der eingeschlossenen Zellen verhältnismässig gering ist und sie ziemlich weit voneinander entfernt liegen, während doch die Osteoblasten meist nicht gedrängt sind und fortwährend neue aus dem Mesenchym sich herausdifferenzieren. Nach den Anschauungen Gegenbaurs sollen alle Osteoblasten eingeschlossen werden. Dagegen bemerkt Kassowitz: „dass eine Umwandlung ganzer Osteoblasten in Grundsubstanz sich deutlich wahrnehmen lässt“. Es müssten nach seiner Ansicht, wenn dies nicht der Fall wäre, die Osteoblasten auseinander weichen; und diese Möglichkeit bestreitet er entschieden; er stimmt darin mit Waldeyer überein. Mit der Annahme, dass Osteoblasten in toto verarbeitet und zu Bindemittel umgewandelt werden, ist ein fortwährendes Zugrundegehen derselben leicht erklärt; dagegen findet sich im mikroskopischen Bild nichts, was berechtigen würde, eine andere Erklärung für den grossen Verbrauch an Osteoblasten zu geben.

Vereinzelt findet man am Rand des Knochenbälkchens grössere protoplasmatische Massen mit mehreren Kernen (2—5). Ihr Vorkommen ist durchaus unregelmässig. Was ihren Bau anbetrifft,

so nehmen sie etwa eine Mittelstellung ein zwischen den Zellen des Periosts und den typischen Osteoblasten; doch stehen sie letzteren näher. Ihr Protoplasma ist wabig, aber die Waben sind kleiner als die der Osteoblasten; der Farbenton der Zelle im Ganzen ist etwas dunkler und gleichmässiger; deutliche Vakuolen fehlen. Die Kerne sind rund, hell und nicht sehr gross; sie liegen im Zentrum der Zelle. Zu den hinter ihnen liegenden Mesenchymzellen und den Fibrillen scheinen sie in keiner Beziehung zu stehen, wenigstens lässt sich eine solche nicht nachweisen. Über ihre Funktion konnte ich nichts ermitteln; es scheinen Osteoklasten zu sein, doch liegen sie nicht in sogenannten Howshipschen Lakunen; sie stehen überhaupt nicht in unmittelbarem Kontakt mit den Knochen; möglicherweise erfolgte die Trennung erst durch die Behandlung der Präparate.

An einer Reihe von Präparaten traten plasmodiumähnliche Zellmassen in besonderer Weise hervor. Die Schnitte stammten von einem 1,5 cm langen Kaninchenembryo, der in Formol fixiert und mit Karmin-Bleu de Lyon gefärbt worden war. Im Gegensatz zu dem andern Unterkiefer desselben Embryos, der die gewohnten Bilder zeigte, war hier der ganze Knochen stark zerklüftet; es sah aus, als ob er hier nicht aus einer zusammenhängenden Spange, sondern aus vielen einzelnen Stücken bestehe. Der ganze Knochen war durchsetzt von solchen Riesenzellen, die sich sonst nur am Rande der Knochenlamellen finden. Typische Osteoblasten waren da, sie traten aber den anderen gegenüber ganz in den Hintergrund. Die Zahl der Kerne erwies sich als sehr gross; ich konnte bis zu 20 und mehr zählen. Oft lagen sie zu dichten Haufen zusammengeballt. Ihre Form war meist schwach elliptisch, wie die Kerne der Osteoblasten, seltener rund, an den Berührungsflächen häufig gegeneinander abgeplattet, so dass sie vieleckig erschienen. Selten lagen sie einzeln. Sehr verschieden war auch die Grösse der Kerne: wo sie einzeln lagen waren sie sehr gross; je mehr aber vorhanden waren, desto kleiner wurden sie. Sie färbten sich sehr hell, waren nicht sehr chromatinreich; die Kernkörperchen waren nicht immer deutlich.

Wichtiger war mir das Verhalten des Protoplasmas. Meist erwies es sich von einem deutlich dunklen Rand umgrenzt; häufig lief auch ein dunkler Faden durch die Mitte der Zelle und setzte sich mit einem dünnen Belag ins umgebende Gewebe fort.

Das Protoplasma färbte sich heller als das der eigentlichen Osteoblasten, doch liess es noch eine feine wabige Struktur erkennen. Sehr deutlich und zahlreich waren Vakuolen vorhanden, die mitunter die Grösse kleiner Kerne erreichten. Manchmal waren die Konturen der Vakuolen etwas verwischt. Durch die Zelle verteilt fand sich ein Niederschlag von Körnchen verschiedener Grösse, die meist in der Mitte des Syncytiums dichter lagen; das Ganze machte einen fleckigen Eindruck. Diese Flecken sahen der jungen Knochensubstanz zum Verwechseln ähnlich. In der Tat liess sich hier häufig ein Zusammenhang mit der Knochensubstanz nachweisen, ein allmähliches Übergehen des Protoplasmas in dieselbe. Manchmal liefen feine strahlenförmige Ausläufer vom Knochen direkt in das Protoplasma hinein. Deshalb sind diese Bildungen auch erwähnt und gezeichnet worden (Fig. 11). Es lässt sich freilich auch hier nicht mit Sicherheit feststellen, ob es sich um einen regressiven Prozess handelt, oder um einen progressiven, beeinflusst durch aussergewöhnliche Bedingungen. — Das letztere scheint mir aber das Wahrscheinlichere. In den den Knochenteilen anliegenden protoplasmatischen Partien waren Kerne sehr selten; sie fehlten hier oft auf lange Strecken; auch zeigten weder Protoplasma noch Kerne Degenerationserscheinungen.

Über die Herkunft der Knochenkörperchen etwas Bestimmtes zu sagen, ist nicht möglich. Sie sind schon äusserlich von den Osteoblasten so sehr verschieden, dass es einem schwer fällt, sie auf jene zurückzuführen. Ein erschwerender Umstand für das Studium derselben liegt ferner darin, dass man sie nur an dickeren, schon ziemlich ausgebildeten Knochenbälkchen gut studieren kann; an dünnen Lamellen trifft man überall nur die Osteoblasten. Die Knochenzellen sind viel kleiner, oft nur halb so gross wie die Osteoblasten und liegen immer einzeln in ihren Höhlen. Um sie herum findet sich deutlich ein freier Raum. Protoplasma und Kern färben sich sehr gleichmässig, ziemlich dunkel; vom Zelleib aus gehen feinste Fortsätze nach allen Richtungen zum Knochen hin; zuweilen lassen sie sich auch noch ein Stück weit in den Knochen hinein verfolgen. Wie bekannt, stehen die Zellen durch Fortsätze in Zusammenhang miteinander. Es ist klar, dass ein solcher Zusammenhang von Anfang an da sein musste, denn es ist wohl nicht gut denkbar, dass die Zellen ihre feinen, zarten Ausläufer in die Knochensubstanz hinein-

treiben. Vielleicht sind in den jüngsten Stadien des Knochens die protoplasmatischen Fortsätze der Knochenzellen deshalb so schwer nachzuweisen, weil das Bindemittel als Abkömmling des Protoplasmas in seiner chemischen und physikalischen Beschaffenheit ihnen noch zu nahe steht und sie sich daher färberisch noch nicht gut von ihm abheben. Erst mit der weiteren Umgestaltung des Bindemittels treten die Unterschiede deutlich hervor. Wie schon erwähnt, sind auch an einzelnen Osteoblasten feinste Ausläufer vorhanden, die direkt ins Bindemittel zu laufen scheinen. Kassowitz unterscheidet für den Prozess der Ossifikation zweierlei Arten von Zellen: 1. grosse polygonale Zellen = Osteoblasten, die sich in die Grundsubstanz umwandeln und 2. kleine sternförmige Zellen (ähnlich Bindegewebszellen), die eingeschlossen werden als Knochenkörperchen.

Von Anfang an zwei deutlich getrennte Arten von Zellen zu unterscheiden, ist nicht möglich; aber es ist die Möglichkeit nicht auszuschliessen, dass die Differenzierung der Osteoblasten von vornherein nach zwei Richtungen erfolgt; es wäre dann auch ganz gut denkbar, dass nur diejenigen Zellen im Zusammenhang bleiben, die bestimmt sind Knochenkörperchen zu werden, während diejenigen Osteoblasten, denen die Bildung des Bindemittels obliegt, sich frühzeitig schon ganz von ihrer Umgebung frei machen.

Besondere Aufmerksamkeit wurde der Frage geschenkt, ob nicht ausser den Knochenzellen noch andere Zellen in die Knochensubstanz mit eingeschlossen werden: indifferente, aus dem syncytialen Zusammenhang losgelöste Mesenchymzellen, die vorerst scheinbar funktionslos liegen bleiben, später aber als erste Zellen des Knochenmarks blutbildende Tätigkeit entfalten. Die Befunde waren durchweg negativ. Obwohl das umliegende Gewebe sehr reichlich ernährt ist, treten mit Blutzellen erfüllte Endothelröhren nur bis zum Knochen heran; in zwei Fällen liessen sich solche quer durch den Knochen verfolgen; wahrscheinlich handelt es sich da um die Anlage grösserer Gefässe, denn die geschlossene Wand war deutlich nachweisbar.

Dass die erste Anlage der übrigen nicht knorpelig präformierten Knochen des Schädels auf dieselbe Weise erfolgt, braucht kaum eigens erwähnt zu werden.

Betrachtet man den Vorgang der Osteogenese, wie er sich durch das Vorausgegangene darstellt, im ganzen, so kommt man

zu der Überzeugung, dass es sich nicht um eine Bildung von Bindegewebe und sekundäre Verknöcherung desselben handelt, daher der Name Bindegewebsknochen auch eigentlich nicht am Platze ist; mit kollagenem Bindegewebe haben die Knochen gar nichts zu tun, sondern sie nehmen ihre Entwicklung in einer Reihe selbständiger Vorgänge direkt aus dem Mesenchym.

Etwas, aber nicht wesentlich anders liegen die Verhältnisse für die periostale Ossifikation; hier findet vorübergehend kollagenes Bindegewebe Verwendung bei der Knochenbildung. Der Prozess der weiteren Knochenbildung selbst unterscheidet sich kaum von demjenigen, wie wir ihn für den sogenannten Bindegewebsknochen kennen gelernt haben; der einzige Unterschied liegt darin, dass die Osteoblasten sich nicht immer aus indifferenten Mesenchymzellen herausdifferenzieren müssen. Ihre Mutterzellen können hier auch echte Bindegewebszellen sein, welche die Fähigkeit, Knochensubstanz zu bilden, latent in sich bewahrt haben. Im Vergleich zu den oben beschriebenen Osteoblasten erscheinen sie etwas kleiner, sonst sind sie aber gerade so gebaut, mit demselben schaumig wabigen Protoplasma und dem stark exzentrisch liegenden Kern. Da die Fibrillen meist schon in reichlichem Maße gebildet sind und zu dicken Balken vereinigt zusammenliegen, ist der ganze Vorgang schwerer zu überblicken und zu verfolgen.

Zusammenfassung an der Hand schematischer Bilder.

I. Lockeres Netzsyncytium mit spärlichem Fibrillen-Mesenchym. Es werden die Fibrillen vor dem Bindemittel intracellulär von indifferenten Zellen des Mesenchyms gebildet.

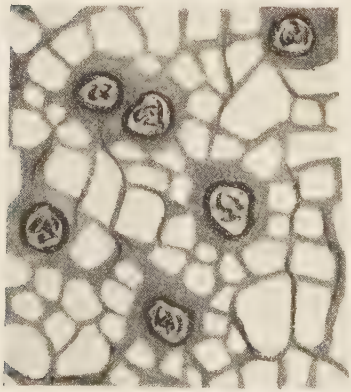


Fig. I.

II. Erstes Stadium der Knochenbildung:

Die Zellen haben sich stark vermehrt (Karyokinesen häufig), stehen aber noch in syncytialem Zusammenhang miteinander. Die Lücken des Mesenchyms werden durch das wuchernde Gewebe verengert, sie werden kleiner, bis sie schliesslich ganz verschwinden. Die reichlicher ge-

bildeten Fibrillen laufen in dichten, aber ungeordneten Bündeln zwischen den Zellen hindurch. Stellenweise finden sich Andeutungen einer Differenzierung des Protoplasmas um die Zellkerne. (Vergl. hierzu auch Fig. 6 a.)

III. Zweites Stadium der Knochenbildung:

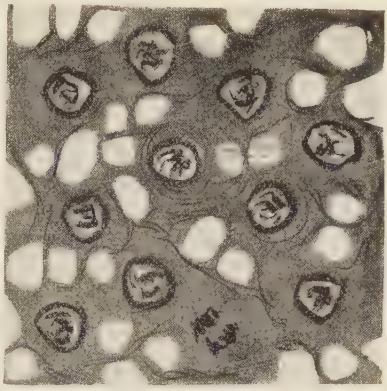


Fig. II.

Das Protoplasma (schwarz) um die Kerne des Syncytiums hat sich stark verändert; diese lösen sich jetzt als neue Zellen (Osteoblasten) aus dem alten Zellverbande los; zum Teil liegen sie als vollständig freie Zellen in den neu entstandenen Gewebslücken, zum Teil bleiben sie durch feinste Fortsätze in dauerndem Zusammenhang mit dem alten Netzsyncytium. Die durch diesen Vorgang von den ursprünglichen Mesenchymzellen abgetrennten protoplasmatischen Schichten werden zu dem Bindemittel (rot), das die Fibrillen verkittet. Das Bindemittel entsteht also in erster Linie als gemeinsames Produkt syncytial verbundener Zellmassen. (Vergl. hierzu auch Fig. 6 b.)

IV. Fig. IV zeigt das Wachstum eines schon weiter entwickelten Knochenbälkchens. Nach aussen zu ist dem Wachstum bereits eine Grenze gesetzt durch die Umbildung des Mesenchyms zum Periost (a); nach innen folgt noch eine Schicht indifferenten Mesenchyms mit spärlich gebildeten Fibrillen (b); die Dicke dieser Schicht ist je nach dem Entwicklungsstadium sehr verschieden. Je näher man dem Knochen kommt, desto reichlicher erscheinen die Fibrillen; sie ordnen sich zu bestimmten Zügen zusammen = „Fibrillenarkaden“ (f); gleichzeitig erfolgt die Los-

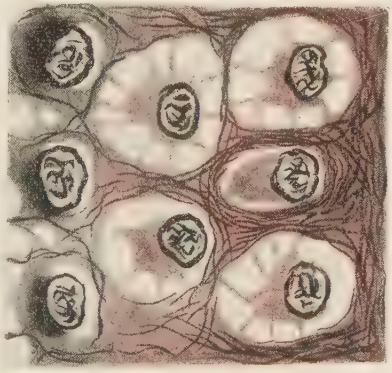


Fig. III.

lösung der Osteoblasten aus dem Syncytium und die Umwandlung des abgetrennten Protoplasmas zum Bindemittel, das die Fibrillenzüge miteinander verbindet. Es ist durch die rote Farbe gekennzeichnet. Vereinzelt trifft man unter den Osteoblasten, den

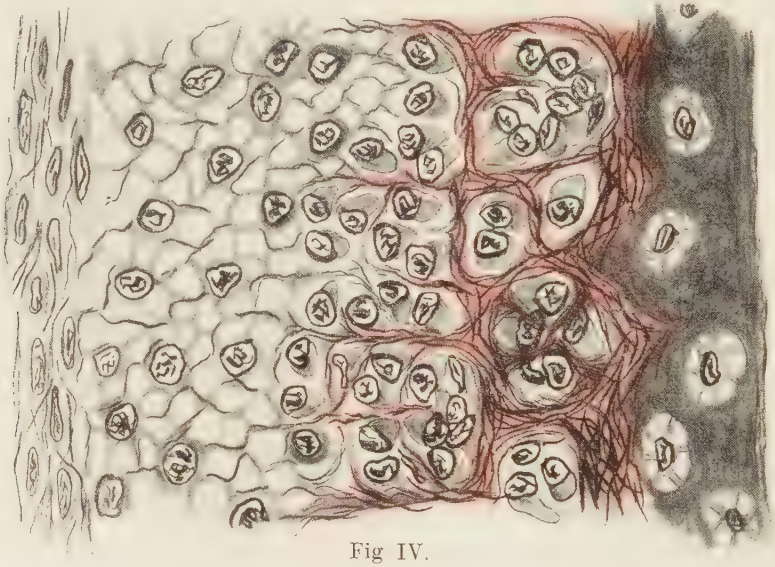


Fig IV.

a *b* *f* *c* *d*

Fibrillen anliegend, jene merkwürdigen geschrumpften Zellen, die ich als Degenerationsformen der Osteoblasten ansehe. Das nächste Stadium (c) zeigt vor allem eine Vermehrung des Bindemittels und eine Verminderung der Osteoblasten (Degenerationsformen häufiger), wodurch die grossen, von den „Fibrillenarkaden" umschlossenen Höhlen allmählich verkleinert und ausgefüllt werden. Es entsteht also das Bindemittel in zweiter Linie durch Umwandlung und Verarbeitung ganzer Osteoblasten.

Das Stadium d zeigt den fertigen Knochen, in dem die Grundsubstanz = Bindemittel + Fibrillen homogen erscheint.

Literaturverzeichnis.

1. Disse, J.: Entstehung des Knochengewebes und des Zahnbeins. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 73, 1909.
2. Derselbe: Wie entsteht die Grundsubstanz des Zahnbeins? Anat. Anz., Bd. 35, 1909.
3. v. Ebner, V.: Über die Entwicklung der leimgebenden Fibrillen im Zahnbein. Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss., Wien, 115, III, 1906.
4. Derselbe: Über scheinbare und wirkliche Radiärfasern des Zahnbeins. Anat. Anz., Bd. 34, 1909.
5. Heinrich, G.: Die Entwicklung des Zahnbeins bei Säugetieren. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 74, 1909.
6. Kassowitz, M.: Normale Ossifikation und die Erkrankung des Knochensystems bei Rhachitis und hereditärer Syphilis. Wien 1881.
7. v. Korff: Entwicklung der Zahnbeingrundsubstanz der Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 67, 1905.
8. Derselbe: Analogie in der Entwicklung der Knochen- und der Zahnbeingrundsubstanz der Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 69, 1906.
9. Derselbe: Zur Histologie und Histogenese des Bindegewebes. Ergebnisse d. Anat. u. Entwicklungsgesch. (Merkel-Bonnet), Bd. 17, 1907.
10. Derselbe: Entgegnung auf die v. Ebnersche Abhandlung „Über scheinbare und wirkliche Radiärfasern des Zahnbeins". Anat. Anz., Bd. 35, 1909.
11. Maximow, A.: Über Zellformen des lockeren Bindegewebes. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 67, 1905.
12. Merkel, F.: Betrachtungen über die Entwicklung des Bindegewebes. Anat. Hefte (Merkel-Bonnet), Bd. 38, Heft II, 1909.
13. Meves, Fr.: Chondriosomen. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 72, 1908.
14. Mollier, S.: Über Knochenentwicklung. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol. München, Bd. 26, 1910.
15. Novikoff, M.: Untersuchungen über die Struktur des Knochens. Zeitschrift f. wiss. Zool., Bd. 92, Heft I, 1909.
16. Rollet, A.: Von den Bindegeweben. In Strickers Lehre von den Geweben, Bd. 1, 1871.
17. Schaffer, J.: Über den feineren Bau und die Entwicklung des Knorpelgewebes und über verwandte Formen der Stützsubstanzen. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 70, 1901.
18. Derselbe: Grundsubstanz, Intercellularsubstanz, Kittsubstanz. Anat. Anz., Bd. 19, 1901.
19. Spuler, A.: Beiträge zur Histologie und Histogenese der Binde- und Stützsubstanzen. Anat. Hefte, Bd. 7, 1896.
20. Studnička, F. K.: Über einige Grundsubstanzgewebe. Anat. Anz., Bd. 31.
21. Derselbe: Die radialen Fibrillensysteme bei der Dentinbildung und im entwickelten Dentin der Säugetierzähne. Anat. Anz., Bd. 30, 1907.

22. Derselbe: Zur Lösung der Dentinfrage. Anat. Anz., Bd. 35, 1909.
23. Waldeyer: Über den Ossifikationsprozess. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 1, 1865.
24. Derselbe: Kittsubstanz, Grundsubstanz, Endothel und Epithel. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 57, 1909.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XII und XIII.

Fig. 1. Horizontalschnitt durch den Unterkiefer eines Schafembryos von 3 cm Länge. Fixierung: Flemmingsche Lösung. Färbung nach Mallory. Obj.: Zeiss. Apochr. 4 mm. Okul. 3. Rand eines wachsenden Knochenbälkchens: vom Knochen ausstrahlende Fibrillenbündel, die sich ins umliegende Gewebe hinaus auflösen. Fibrillen durch Bindemittel zusammengehalten, dessen Struktur bei dieser Vergrösserung nicht erkennbar. Arkadenförmige Anordnung der Fibrillenzüge. Den Fibrillen liegen an die Osteoblasten, deren Protoplasma häufig direkt in das Bindemittel überzugehen scheint.

Fig. 2. Mesenchym: Unterhautzellgewebe aus der Unterkiefergegend desselben Schafembryos. Färbung der Fibrillen mit Blauschwarz. Hom. Imm. Zeiss 1/12. Compl.-Okul. 3. Syncytialer Zusammenhang der Zellen. Der wabige Bau des schwach färbbaren Protoplasmas wurde nicht zum Ausdruck gebracht. Grössere ungefärbte Saftlücken sind überall vorhanden. Fibrillen verlaufen deutlich im Protoplasma, meist in den Randpartien, niemals durch die Lücken.

Fig. 3. Verdichtetes Mesenchymgewebe um das Medullarrohr (Katze). Färbung nach Bielschowsky. Hom. Imm. Zeiss 1/12. Compl.-Okul. 3. Deutliches Syncytium der Zellen und netziger Bau des Syncytiums; es imprägnieren sich die fertigen und die entstehenden Fibrillen, letztere als Reihen feiner Körnchen. — Zusammenhang von Protoplasma und Fibrillen.

Fig. 4. Frontalschnitt durch Unterkiefer eines Schafembryos von 8,5 cm Länge. Fixierung: Flemmingsche Lösung. Färbung: Hämatoxylin nach Heidenhain. Hom. Imm. Zeiss 1/12. Compl.-Okul. 3. Fibrillen an der Oberfläche der Osteoblasten, parallel zueinander verlaufend. K = Knochenbälkchen; Z = Knochenzelle.

Fig. 5. Horizontalschnitt durch Unterkiefer eines Schafembryos von 3 cm Länge (Fig. 1). Hom. Imm. Zeiss 1/12. Compl.-Okul. 3. Osteogenes Mesenchym: Vermehrung der Zellen und Fibrillen gegen das Knochenbälkchen zu; die Fibrillen werden zu dichteren Bündeln zusammengeschoben. Protoplasma nahezu ungefärbt.

Fig. 6a. Derselbe Embryo. Färbung nach Harnowsky. Hom. Imm. Zeiss 1/12. Compl.-Okul. 3. Die Zellen beginnen sich aus dem syncytialen Verband zu lösen. Das Protoplasma, jetzt Bindemittel färbt sich stärker; die grossen Lücken zwischen den Netzmaschen

verschwinden. a = losgelöste Osteoblasten; b = Differenzierung des Protoplasmas in Zellprotoplasma und Bindemittel.

Fig. 6b. Derselbe Embryo. Färbung mit Heidenhainschem Hämatoxylin-Fuchsin S. Hom. Imm. Zeiss 1/12. Compl.-Okul. 3. Derselbe Vorgang etwas weiter vorgeschritten. Protoplasma und Bindemittel schon deutlich gegeneinander getrennt. Die Osteoblasten zeigen bereits die typische Form, haben aber stellenweise noch den Zusammenhang mit dem Bindemittel bewahrt. Die Färbung des Bindemittels geht allmählich in die der Knochengrundsubstanz über, während das Protoplasma den roten Farbstoff (Fuchsin S) nicht annimmt.

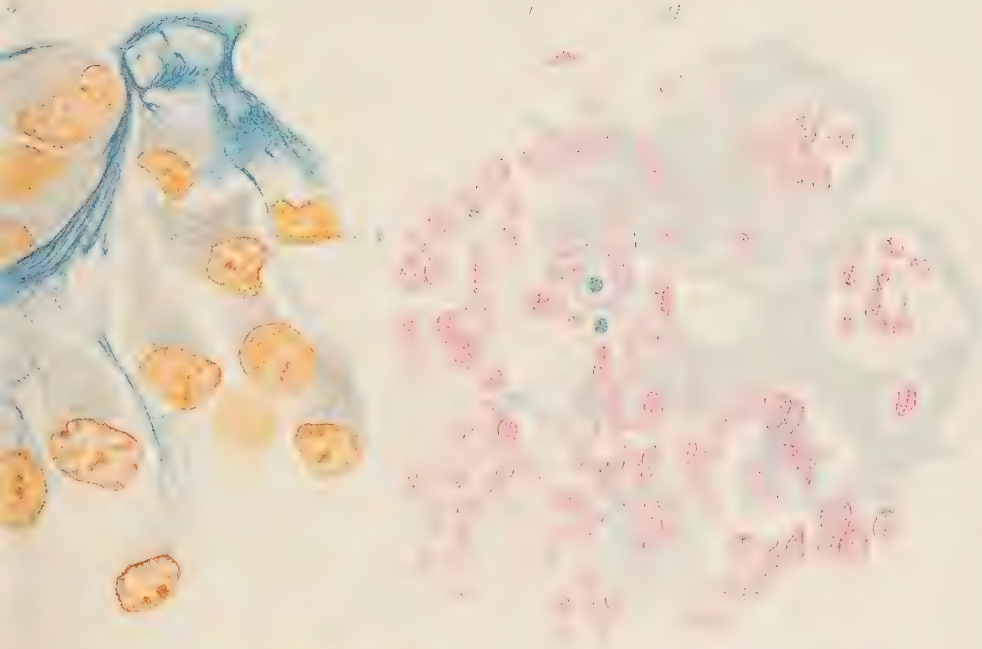
Fig. 7. Kaninchenembryo von 1,5 cm Länge. Horizontalschnitt durch Unterkiefer. Fixierung: Sublimat. Färbung: Carmin-Bleu de Lyon. Hom. Imm. Zeiss 1/12. Compl.-Okul. 3. Erste Anlage von Bindemittel, zeigt netzige Struktur und in demselben verlaufende Fibrillen. Zweierlei Zellen zu unterscheiden: grosse helle typische Osteoblasten; solche mit dunklem zusammengedrücktem Kern und Zelleib.

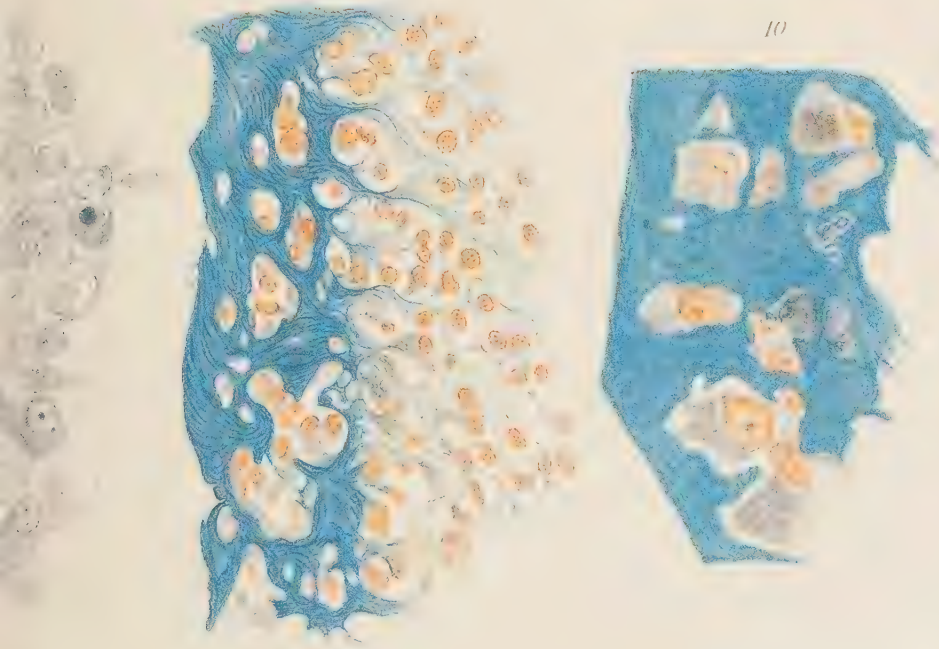
Fig 8. Derselbe Embryo. Färbung mit wässriger Lösung von Thionin. Hom. Imm. Zeiss 1/12. Compl.-Okul. 3. Schmales Knochenbälkchen; die Knochensubstanz ist fast ungefärbt. Die Zellen zeigen deutliche Ausläufer, die mit denen benachbarter Zellen zusammenhängen oder auslaufen in den etwas dunkler sich färbenden Rand der Knochenhöhlen. Protoplasma lässt sich nicht immer scharf gegen die Knochensubstanz abgrenzen, sondern scheint direkt in diese überzugehen. Die Zellen aussen am Rande sind nicht weiter ausgeführt.

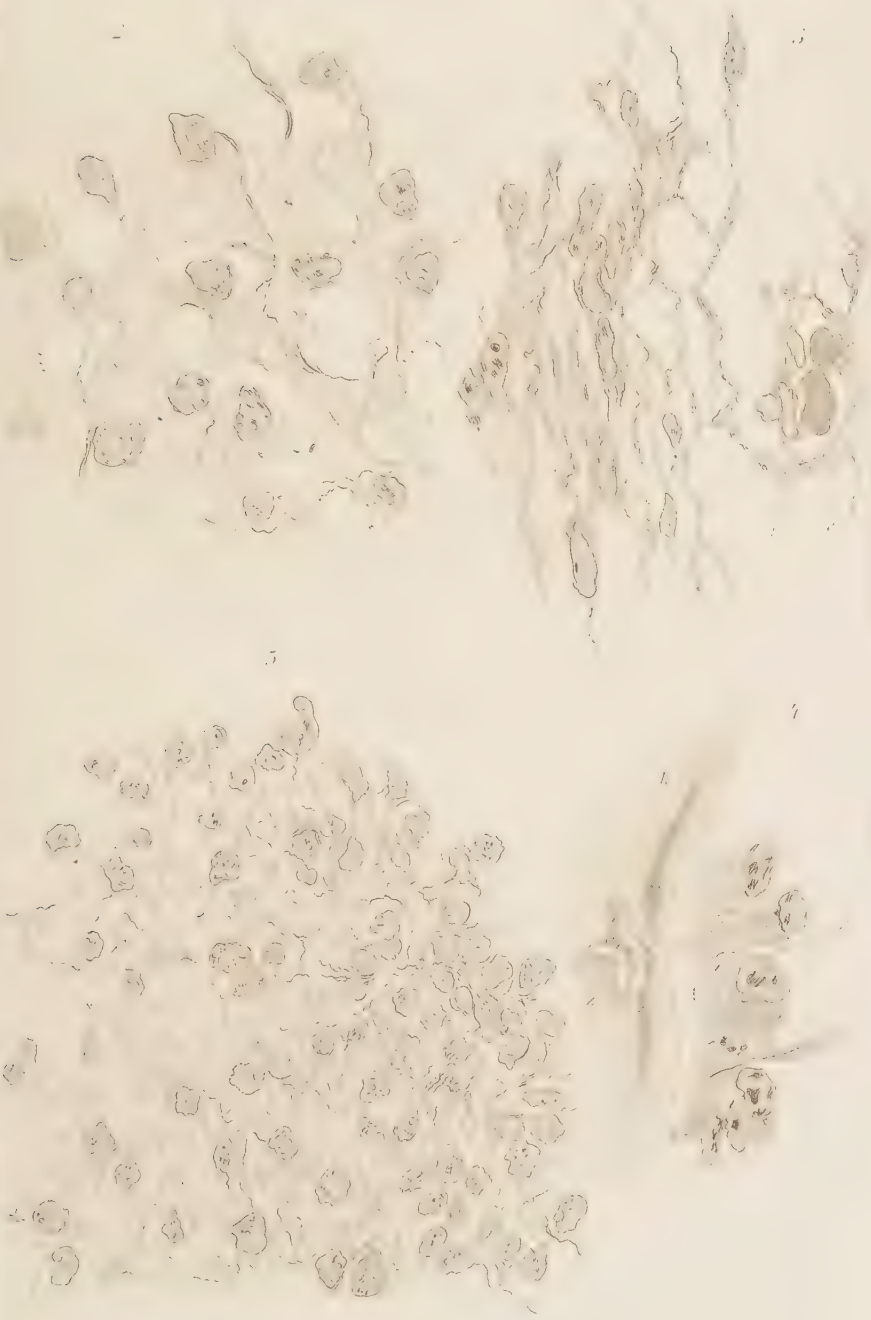
Fig. 9. Derselbe Embryo wie Fig. 1. Hom. Imm. Zeiss 1/12. Okul. 8. Form und Struktur der Osteoblasten und ihre Lage zu den Fibrillen. V = Vakuole.

Fig. 10. Schafembryo von 2,8 cm Länge. Frontalschnitt durch Unterkiefer. Fixierung: Flemmingsche Lösung. Färbung nach Mallory. Hom. Imm. Zeiss 1/12. Compl.-Okul. 3. Rand eines schon ziemlich dicken Knochenbälkchens, dessen fibrilläre Grundlage nicht mehr deutlich erkennbar ist. In der Knochensubstanz zahlreiche zugrunde gehende Zellen und Zelltrümmer.

Fig. 11. Derselbe Embryo wie Fig. 7. Grosse protoplasmatische Syncytien, aus denen durch Umwandlung das Bindemittel zu entstehen scheint. Verlauf der Osteogenese hier nicht normal. e = Erythrocyten; v = Vakuolen; k = Karyokinese; kommt sonst so nahe dem Knochen nicht vor.







Lebenslauf.

Ich wurde geboren am 9. Januar 1881 zu Neu-Ulm als Tochter des damaligen Leutnants Richard Hartmann, besuchte die Volksschule zu München und Speyer, die höhere Töchterschule zu Speyer und Berlin, wurde 1894 in das K. Max-Joseph-Stift aufgenommen, wo ich bis Juli 1898 verblieb. Nach zweijährigem Aufenthalt in England trat ich im Herbst 1903 in die Privatgymnasialkurse von Sickenberger ein und erhielt im Juli 1906 die Erlaubnis, am K. Ludwigsgymnasium zu München mich der Absolutorialprüfung zu unterziehen. Oktober 1906 wurde ich an der Universität München als Studentin der Medizin immatrikuliert, bestand im Februar 1909 die ärztliche Vorprüfung, unterzog mich nach weiteren fünf Semestern der medizinischen Staatsprüfung, welche ich am 18. Dezember 1911 beendigte.

München, den 20. Dezember 1911.

Adele Hartmann.